

304406



UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

Incorporada a la
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

EFECTO PIGMENTANTE DE LA CANTAXANTINA Y LA
CAPSANTINA EN LA PIEL DEL PEZ JAPONES
(carassius auratus)

T E S I S

Que para obtener el titulo de:
LICENCIADO EN BIOLOGIA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Presenta
LIA ALEJANDRA ROMERO LEYVA

AGOSTO DE 1990



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

	Págs.
1.0 Introducción.	1
2.0 Antecedentes.	5
2.1 Química de los carotenoides.	5
2.2 Clasificación de los carotenoides.	6
2.3 Características de la cantaxantina y la capsantina.	8
2.4 Factores que afectan la pigmentación.	9
2.5 Los oxicarotenoides como fuente de pigmento.	11
2.6 Antecedentes del pez japonés (<u>Carassius auratus</u>).	14
3.0 Objetivos.	15
4.0 Hipótesis.	15
5.0 Metodología.	16
5.1 Obtención de los peces.	16
5.2 Desparasitación de los peces.	16
5.3 Despigmentación.	1
5.4 Diseño del experimento.	12
5.5 Evaluación del valor pigmentante del Carophyll Red y del Bio-Red (Asignación de tratamientos).	21
6.0 Resultados.	23
6.1 Valor pigmentante del Carophyll Red y del Bio-Red. .	23
6.2 Efectividad del Bio-Red y del Carophyll Red.	24
6.3 Dosificaciones que producen mejor pigmentación.	25
6.4 Pruebas de toxicidad para el Bio-Red.	26
7.0 Discusión.	27
7.1 Valor pigmentante del Carophyll Red y del Bio-Red.	27

7.2	Efectividad del Bio-Red y del Carophyll Red.	27
7.3	Dosificaciones que producen mejor pigmentación..	31
7.4	Pruebas de toxicidad para el Bio-Red.	32
8.0	Anexo 1.	33
9.0	Anexo 2.	41
10.0	Conclusiones.	43
11.0	Sugerencias.	44
12.0	Literatura.	45

RESUMEN

El pez japonés (Carassius auratus) fue alimentado con Carophyll Red, pigmento sintético, y Bio-Red, pigmento natural, a tres niveles de dosificación (25, 50 y 75 mg/kg de alimento) durante 60 días. Para ambos tratamientos se encontró un efecto pigmentante con respecto al tratamiento control. Sin embargo, el Bio-Red presentó un poder pigmentante mucho mayor que el del Carophyll Red. Este último, además de que en ésta especie de pez proporciona una pigmentación menor, su costo resulta prohibitivo.

Cabe aclarar que los niveles de dosificación para el Carophyll Red no fueron directamente proporcionales a la pigmentación obtenida. Respecto al Bio-Red, ésta relación si fue directamente proporcional.

La pigmentación en los peces experimentales, para todos los tratamientos, fue evaluada por medio de la colorimetría de reflectancia. Visualmente, se pudo constatar que la pigmentación más intensa y apreciada en piscicultura ornamental correspondió a los tratamientos con Bio-Red.

1.0 INTRODUCCION

La pigmentación de piel y de plumas es una característica básica en los animales de ornato. En el caso de los peces, aquellos con más colorido tendrán mayor demanda (Bauernfeind, 1981). Los carotenoides, y en especial los oxicarotenoides, han sido ampliamente estudiados y actualmente se utilizan en:

- 1) **Avicultura.**- Para la pigmentación de piel de pollos y yema de huevo.
- 2) **Piscicultura comestible.**- Para la pigmentación de músculo.
- 3) **Cosmetología.**- Para la coloración de labiales, polvos faciales, etc.
- 4) **Medicina .-** Donde son probados como anti-cancerígenos.
- 5) **La industria farmacéutica.**- Para la coloración e identificación de los diferentes fármacos.
- 6) **La industria alimenticia.**- Donde tanto la cantaxantina como la capsantina son adicionadas como colorantes de bebidas, quesos, ensaladas, bases para gelatinas, sopas y productos de carne (Bauernfeind, 1981).

El gran interés que los carotenoides han causado durante los últimos veinte años no se debe únicamente a su estructura química, sino más bien a su importancia biológica y fisiológica. Algunos de los carotenoides son precursores de la vitamina "A" y tienen un papel esencial en el proceso visual de los animales, incluyendo al organismo humano.

Desde el punto de vista psicológico, los oxicarotenoides cumplen la función de provocar diferentes efectos en el hombre de acuerdo a la pigmentación que producen (Karrer y Jucker, 1950).

En el presente bioensayo se experimentó con los siguientes productos: Carophyll Red (CR), pigmento sintético, contiene cantaxantina al 10% y el Bio-Red (BR), pigmento natural, la muestra utilizada en el presente estudio reportó 35.27% de capsantina y 5.29g/kg de xantofilas totales. Ambos pigmentos gozan de gran prestigio en el mercado nacional y al adicionarlos a la dieta proporcionan una pigmentación que va desde el rosa pálido hasta el rojo oscuro, según la dosificación de los mismos (D'Abramo, et al., 1983). Su uso no requiere de aparatos ni cuidados especiales y se consiguen en forma de polvo, gránulos y soluciones, dependiendo de las necesidades de uso.

Por lo anterior, se estudió la efectividad de los mismos dentro de la piscicultura ornamental. Esta última es la rama de la acuacultura que se encarga del cultivo de peces decorativos. Se trata de una actividad muy lucrativa que a últimas fechas se ha desarrollado en todo el mundo y que además ha generado diferentes fuentes de trabajo como lo son:

- Cultivo y venta de peces ornamentales.
- Cultivo, captura y venta de alimento natural para peces.
- Elaboración, empaque y venta de alimento artificial para peces.
- Construcción y venta de acuarios.
- Preparación y venta de medicamentos.

Dentro de la piscicultura ornamental existe una gran variedad de peces decorativos muy llamativos tanto por su colorido como tamaño y forma. Uno de los peces más vistosos es el pez japonés (Carassius auratus), mismo que fué elegido para ésta investigación por su tonalidad de piel que cae dentro de la gama de colores de los pigmentos anteriormente mencionados. Además que cuenta con una gran demanda debido a su resistencia, capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y por ser el pez de ornato utilizado como mascota por excelencia (Fabre, 1987; Axelrod y Schultz, 1975; Couto, 1979).

Originario del Japón, el pez japonés ha sido objeto de una extensa manipulación genética que ha dado como resultado la producción de variedades muy atractivas en formas y colores. Sin embargo, ésta técnica requiere de mayores cuidados y tiempo para lograr una variedad que genéticamente produzca progenie con una pigmentación uniforme que la aplicación misma de los pigmentos.

Por todo ello, el objetivo de la presente investigación se encaminó a evaluar el poder pigmentante de las xantofilas en cuestión en ésta especie a fin de incrementar su pigmentación y consecuentemente su mejor cotización en el mercado nacional e internacional.

2.0 ANTECEDENTES

2.1 QUIMICA DE LOS CAROTENOIDES:

Karrer y Jucker (1950) definen al carotenoide como un término genérico utilizado para describir moléculas lipofílicas compuestas de ocho unidades de isopreno pentacarbónico, de ahí su solubilidad en las grasas (Babor, 1980). La estructura química de los carotenoides es de suma importancia; no solo para poder reproducirlos sintéticamente a nivel de laboratorio, sino que de ella depende la coloración de los mismos así como la pigmentación de diferentes especies. Esto definitivamente se debe a la posición de las dobles ligaduras en la molécula ya que si se encuentran en configuración Trans (paralela una a otra), la pigmentación será naranja-rojiza. Por otra parte, si las ligaduras no se encuentran paralela una a otra estarán en configuración Cis y producirán una pigmentación amarilla pálida. Por lo tanto, los oxicarotenoides Cis poseen menos eficiencia pigmentante que los Trans (Harms, 1980).

Los oxicarotenoides pueden tener grupos ceto. Por ejemplo, la cantaxantina y la capsantina que son responsables en gran parte del color de los flamings y de los pimientos (Hamilton, 1980; Tyczkowski y Hamilton, 1986). La estructura química de los carotenoides puede verse afectada por la luz, el calor y el oxígeno.

2.2 CLASIFICACION DE LOS CAROTENOIDES

Existen dos criterios para subdividir a los carotenoides: En base a sus características químicas (Deul, 1955) ó de acuerdo a sus acciones biológicas (Marusich, 1971).

ORGANIZACION QUIMICA DE LOS CAROTENOIDES

C A R O T E N O I D E S

Carotenos

Hidrocarburos que
no contienen oxígeno
Ej: β -caroteno

Xantofilas

Hidrocarburos que
contienen oxígeno
llamados oxicaro-
tenoides
Ej: Cantaxantina.

(Deul, 1955).

FIGURA 1

Organización de los carotenoides de acuerdo a su habilidad para pigmentar.

C A R O T E N O I D E S

- | | | |
|-----|--|--|
| I. | Precusores de vit."A"
que no pigmentan
Ej: A y β -caroteno. | Precusores de vit."A"
que si pigmentan
Ej: criptoxantina y
β -apo-8'-carotenal. |
| II. | No precusores de
vit."A" que no
pigmentan
Ej: violaxantina
y neoxantina. | No precusores de
vit."A" que si
pigmentan
Ej: cantaxantina,
luteina y
zeaxantina. |

(Marusich, 1971, tomado de Nelson, Ch. 1989).

2.3 CARACTERISTICAS DE LA CANTAXANTINA Y LA CAPSANTINA

La cantaxantina y la capsantina presentan estructura química similar. Sin embargo, poseen características que las distinguen entre sí.

Es importante conocer algunas de las propiedades de éstos pigmentos para su mejor aplicación en la piscicultura ornamental.

	Cantaxantina	Capsantina
Fórmula química:	$C_{40} H_{52} O_2$	$C_{40} H_{56} O_3$
Descripción:	Cristales de color violeta fuerte. Se consiguen en forma de soluciones, en aceites, grasas y solventes orgánicos. Así como en formas que se dispersan en el agua como polvos.	Cristales de color rojo oscuro. Se consiguen en forma de soluciones en aceites.
Solubilidad:	Insoluble en agua etanol y aceites vegetales. Soluble en cloroformo, hexano y ciclohexano.	Insoluble en agua. Soluble en aceites hexano y benceno.
Identidad:	β -caroteno-4,4'-dione (sintético).	<u>Capsicum annum</u> (Natural).
Uso:	Colorante alimenticio.	Colorante alimenticio.
Origen:	Hongo: <u>Cantarellus cinnabarinus</u> .	Pimiento: <u>Capsicum annum</u> .
Investigador:	Haxo (1950).	Zechmeister <u>et al.</u> ; (1927).

2.4 FACTORES QUE AFECTAN LA PIGMENTACION

Existen tres factores que afectan la pigmentación de los peces:

-Salud del pez.

-Raza (herencia).

-Efectividad y cantidad de pigmento (Basurto, 1988).

La habilidad de acumular pigmentos no está relacionada con el peso del pez, sino con el estado fisiológico del mismo (Torrissen, 1984). La salud del pez es de gran importancia ya que si el pez presenta infestaciones y/o infecciones internas, bacterias entéricas ó coccidias, la pigmentación disminuye notablemente (Basurto, 1988). Las bacterias ocasionan engrosamiento de la pared intestinal y el pigmento no se absorbe. En el caso de las coccidias, tales como la Eimeria sp, éstas están relacionadas directamente con la pigmentación dado que en el plasma de los peces existe una fracción lipoproteica donde se concentran los carotenoides. La infección por Eimeria sp altera de alguna manera la estructura de la lipoproteina (Allen, 1989). Es de suponerse entonces que la absorción de los carotenoides requiera de la presencia de un transportador de proteínas estereoespecifico. Este último es también específico de la especie en cuestión, mientras que la lipoproteina es la molécula transportadora (Ganguly et al., 1959; Quakenbush et al., 1965).

Las Eimerias causan daños estructurales en el tejido del intestino ocasionando pérdida de la mucosa. Esta puede verse acompañada por un alargamiento en los segmentos del intestino delgado como es el caso de la Eimeria acervulina y la Eimeria máxima, ó por aumentos de diámetro como es el caso de la Eimeria necatrix, lo que provoca un aumento en la actividad mitótica en las criptas de la mucosa que muestran sus propiedades alteradas (Allen, 1989).

La raza está regulada por un par de genes de los cuales el dominante, conocido como "W", impide la fijación de los carotenoides cuando se presenta, mientras que el gen doble recesivo "ww" permite la asimilación de los mismos (Basurto, 1988).

La efectividad y cantidad de pigmento presente en los alimentos puede obtenerse en forma natural, al ingerir animales o vegetales que los contienen ó bien adicionándolos al alimento balanceado (Basurto, 1988; Hata y Hata, 1973).

2.5 LOS OXICAROTENOIDES COMO FUENTE DE PIGMENTO

Ciertos carotenoides han sido utilizados como fuentes de pigmento en algunas especies de flamings (Phoenicopterus ruber). La inclusión de cantaxantina en la dieta no solo influye en la pigmentación, sino en la reproducción y fertilidad de dichas aves. Además de acumularse en el plumaje, piel de las patas, yema de huevo, sangre e hígado (Wackernagel, 1963. fide: Harris, 1984).

Algunas aves silvestres han sido experimentalmente alimentadas con cantaxantina con excelentes resultados de pigmentación (Harris, 1984). La astaxantina y la cantaxantina son los oxicarotenoides más comúnmente utilizados en acuicultura para la pigmentación tanto de carne de trucha como de salmón, obteniéndose con su aplicación un color rosado. Con esta característica la carne tiene mayor demanda en el mercado y es más redituable ya que el precio del salmón está relacionado con la intensidad del color (Meyers y Chen, 1983; Christiansen y Wallace, 1984; Foss et al., 1984).

Deufel et al., 1975; fide: Bauernfeind, 1981, mostraron que la cantaxantina puede ser usada para incrementar el color de la piel, carne y huevos de trucha. Entre más pigmentada se encuentre la piel de los machos, ésta servirá para atraer a las hembras (Krinski, 1971; fide: Bauernfeind, 1981). Otras posibles funciones de los oxicarotenoides durante el desarrollo embrionario, incluyendo el papel como fuente de provitamina "A", fueron revisadas por Tacon (1981) quién concluyó que dichos pigmentos intervienen como :

- Hormona de fertilización.
- Incremento en el crecimiento, grado de maduración y fecundidad de los peces.
- Reducción del grado de mortalidad durante el desarrollo embrionario.

Los peces aumentan su resistencia a condiciones ambientales severas como: elevadas temperaturas del agua, elevados niveles de amonio y efectos dañinos de la luz. De igual manera adquieren una función respiratoria bajo concentraciones limitadas de oxígeno (Muller et al., 1980). Sin embargo, ninguna de éstas funciones ha sido documentada científicamente (Czygan, 1964; Hartmann et al., 1947; fide: Tacon, 1981).

Generalmente se acepta que los carotenoides actúan como protectores del daño causado a las células por la acción fotodinámica sirviendo como pigmento filtrador (Torriseñ y Braekkan, 1979). Como ya se mencionó, los carotenoides son liposolubles. Estudios realizados por Spinelli (1979) y Seurman et al., (1979) indican un incremento en el depósito del pigmento al aumentar el contenido de grasa en la dieta. Sin embargo, Choubert y Luquet (1983), no observaron ningún efecto claro al respecto, al revisar los posibles efectos de la grasa y vitamina "A" en la absorción y depósito de los pigmentos carotenoides.

La grasa puede favorecer la absorción, pero desfavorecer la estabilidad de los carotenoides ya que como radicales libres pueden oxidarlos (Choubert, 1983; Choubert y Luquet, 1983; Choubert, 1985; Torrison, 1982). Estudios realizados por Choubert (1985) indican que la cantaxantina se almacena esencialmente en la membrana sarcoplásmica de la fibra muscular, la cual contiene fosfolípidos que intervienen en la fijación de la misma.

2.6 ANTECEDENTES DEL PEZ JAPONES (Carassius auratus)

La literatura revisada no reveló información sobre los requerimientos nutricionales del pez japonés. No se menciona, en ninguna publicación, una dieta que se haya probado con diferentes pigmentos. Sin embargo, se han realizado otro tipo de estudios como la biosíntesis, incorporación y transformación de carotenoides (Rodríguez et al., 1974).

El pez japonés tiene la habilidad de llevar a cabo la rara conversión del anillo ϵ al anillo β de los carotenoides. Igualmente convierte la luteína a 3' epiluteína. La luteína y el β -caroteno pueden ser convertidos a astaxantina, mientras que la mayoría de los peces solamente pueden almacenar los carotenoides ó esterificar los alcoholes de los mismos (Bauernfeind, 1981).

Del Carassius auratus se han aislado:

- 1) De piel.- β -caroteno, luteína, zeaxantina, A-doradexantina, astaxantina y β -doradexantina (Katayama et al., 1971).
- 2) De huevos.- β -caroteno, cantaxantina y astaxantina.
- 3) Del hígado .- β -caroteno, luteína y zeaxantina (Katayama et al., 1973; fide: Bauernfeind, 1981).

Los peces son incapaces de sintetizar carotenoides de novo por lo que deben ingerirlos a través de la dieta (Liaaen-Jensen, 1978; Meyers, 1982; Harris, 1984; Choubert, 1985).

3.0 OBJETIVOS:

a) Probar el valor pigmentante de la cantaxantina y la capsantina en la piel del pez japonés (Carassius auratus) vía dieta.

b) Comparar la efectividad de la cantaxantina, pigmento sintético, y capsantina, pigmento natural, en el pez japonés .

c) Determinar la dosificación mínima de pigmento con la cual el pez japonés adquiere una mejor pigmentación.

d) Observar los posibles efectos secundarios de la capsantina adicionada a la dieta.

4.0 HIPOTESIS:

a) La adición de la cantaxantina y la capsantina en la dieta pigmenta la piel del pez japonés (Carassius auratus).

b) La efectividad del pigmento natural es mayor que la del pigmento sintético.

c) La cantaxantina y la capsantina son capaces de pigmentar la piel del pez japonés en forma directamente proporcional a la cantidad suministrada en la dieta.

d) La capsantina, por ser extracto de pimiento, puede provocar baja tolerancia y efectos indeseables en el pez japonés.

5.0 METODOLOGIA:

5.1 OBTENCION DE LOS PECES:

Se utilizaron ejemplares cría de pez japonés (Carassius auratus) variedad cola de velo y color naranja. La procedencia de los animales fué una granja piscícola ubicada en Atlacomulco, Morelos. El bioensayo se desarrolló en el Departamento de Acuacultura; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Nacional Autónoma de México.

5.2 DESPARASITACION DE LOS PECES:

Los peces obtenidos presentaron ectoparásitos y endoparásitos. Estos últimos se detectaron a través del análisis coproparasitológico de heces. La desparasitación se realizó colocando a los peces en un acuario con capacidad de 160 litros de agua y 8mg/l de ajo molido (Allium sativum). El tratamiento tuvo una duración de tres días sin cambios de agua (Peña, et al, 1988). Al término del mismo se efectuó otro análisis coproparasitológico para evaluar el resultado de la desparasitación (Hoffman, 1967).

5.3 DESPIGMENTACION

Los peces fueron distribuidos al azar en siete tratamientos con siete peces cada uno. Cada tratamiento se probó en un acuario con capacidad para 16 litros.

A fin de evaluar la efectividad de los pigmentos, los peces fueron alimentados durante 60 días con una dieta libre de xantofilas llamada "dieta blanca". Esta se suministró al 3% del peso de los peces dividido en tres raciones al día. Todos los acuarios se mantuvieron bajo las mismas condiciones de temperatura ambiental, entre 20 - 23°C, con un pH de 7.2. Cada día se realizaron cambios de agua del 50%.

Al finalizar la etapa de despigmentación, se midió el grado de saturación de pigmentos rojos presentes en los peces. La medición se realizó en la zona comprendida entre la línea lateral y la base de la aleta dorsal. Las lecturas fueron hechas con un colorímetro de reflectancia Minolta CR- 100, propiedad de Laboratorios Bioquimex, S.A. de C.V.

5.4 DISEÑO DEL EXPERIMENTO:

La dieta inicial fué sometida a un proceso de esterilización con vapor a presión. Posterior al proceso se adicionaron las vitaminas, minerales y los pigmentos.

La dieta contenía los siguientes ingredientes:

Harina de hígado de res.

Harina de carne.

Harina de pescado.

Sorgo.

Soya.

Diferentes cantidades de pigmentos a probar.

La dieta fué diseñada especialmente para ésta investigación y se le analizó por medio de un químico proximal para verificar los valores con respecto a las necesidades nutricionales del pez japonés.

ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LA DIETA EXPERIMENTAL

Materia Seca	100%
Humedad	0.0%
Proteina Cruda	46.46%
Extracto Etéreo	5.30%
Cenizas	10.10%
Extracto Libre de Nitrógeno	33.93%
Fibra Cruda	4.30%
Total de Nutrientes Digestibles	78.26%
Energia Digerible kcal/kg.	3443.59%

El análisis de xantofilas de la dieta fué realizado por el método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) en el laboratorio de análisis químicos para alimentos del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Universidad Nacional Autónoma de México.

La composición de la dieta satisfiso las necesidades nutricionales del pez japonés ya que para la elaboración de la misma se tomaron en cuenta diferentes criterios (Anderson, et al., 1984; Andrews, 1980; Gatlin, 1978; Lovell y Lim, 1978; Martty, 1980; Millikin, 1982; Morales, 1980; Smith, 1978; Stickney y Lovell, 1977; Subcommittee on Poultry Nutrition, 1977; Subcommittee on Warmwater Fishes Nutrition, 1977; Symp. on Finfish Nutrition; Secretaría de pesca, 1982).

5.5 EVALUACION DEL VALOR PIGMENTANTE DEL CAROPHYLL RED Y DEL BIO-RED (Asignación de tratamientos).

Tanto al inicio como al término del experimento se evaluó la pigmentación de los peces por medio de la colorimetría de reflectancia. Es decir, la variable respuesta es la diferencia de pigmentación observada durante la adición de pigmentos.

Para la evaluación de la efectividad pigmentante del Carophyll Red (CR), pigmento rojo sintético (10% de cantaxantina): Hoffman La-Roche y del Bio-Red (BR), pigmento rojo natural (5g/kg de xantofilas totales) ver anexo 2: Laboratorios Bioquimex, S.A. de C.V., se utilizó como base la "dieta blanca" adicionada con diferentes cantidades de pigmentos:

Tratamiento 1: Control (dieta blanca).

Tratamiento 2: 25mg de Carophyll Red / kg de alimento.

Tratamiento 3: 50mg de Carophyll Red / kg de alimento.

Tratamiento 4: 75mg de Carophyll Red / kg de alimento.

Tratamiento 5: 25mg de Bio-Red / kg de alimento.

Tratamiento 6: 50mg de Bio-Red / kg de alimento.

Tratamiento 7: 75mg de Bio-Red / kg de alimento.

Para cada tratamiento se tuvieron 4 réplicas donde cada réplica fué un acuario. Los peces fueron alimentados con las dietas anteriores durante 30 días. La cantidad de alimento suministrado diariamente fué el equivalente al 3% del peso de los peces y se dividió en tres raciones (Anderson et al., 1984; André, 1926; Lovell y Lim, 1978; Mahajan y Agrawal, 1980; Wilson y Poe, 1985).

Para analizar la tolerancia del Bio-Red se realizaron análisis histopatológicos del intestino delgado y grueso de los peces (4 por réplica). Para evaluar los efectos indeseables, se observaron diferentes conductas como fueron el rechazo del alimento y enfermedades.

El análisis estadístico se basó en un diseño completamente aleatorizado con dos factores (pigmentos) a tres niveles (25, 50 y 75mg/kg) más un testigo. En todos los casos, se utilizaron pruebas no-paramétricas (Kruskall-Wallis y Mann-Whitney según los casos) y (Daniel, 1980; Lewis, 1981).

6.0 RESULTADOS

Los resultados obtenidos en éste trabajo se han dividido como sigue:

- 6.1 VALOR PIGMENTANTE DEL CAROPHYLL RED Y BIO-RED.
- 6.2 EFECTIVIDAD DEL BIO-RED Y DEL CAROPHYLL RED.
- 6.3 DOSIFICACIONES QUE PRODUCEN MEJOR PIGMENTACION.
- 6.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD PARA EL BIO-RED.

6.1 VALOR PIGMENTANTE DEL CAROPHYLL RED (CR) Y DEL BIO-RED (BR).

Se observó que tanto el CR como el BR produjeron pigmentación cuando se compararon con el grupo control. Como se observa en la gráfica 1, los valores de pigmentación del grupo control están por debajo de los tratamientos, mismos que van del 2 al 7 y difieren de manera significativa (Prueba de Mann-Whitney, $p < 0.05$) y (Tabla 1, Anexo 1).

6.2 EFECTIVIDAD DEL BIO-RED (BR) Y DEL CAROPHYLL RED (CR)

a) Bio-Red (BR):

En las tablas 2 y 3 aparecen los resultados de los diferentes niveles de dosificación de Bio-Red: 25, 50 y 75mg/kg, en los que hubo diferencias significativas entre niveles.

b) Carophyll Red (CR):

En las tablas 4 y 5, se observa que existen diferencias significativas entre el nivel de 25mg/kg de CR y los niveles de 50 y 75mg/kg del mismo, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre las dos últimas dosificaciones.

c) En la tabla 6, se muestran los resultados de los niveles de 25mg/kg de BR y 50mg/kg de CR que no reportaron diferencias significativas ($p < 0.05$).

Por lo tanto, existen diferencias entre el tratamiento 1 con respecto a los tratamientos que van del 2 al 7.

El tratamiento 2, presenta diferencias con respecto al 3 y 4, teniendo los dos últimos los mismos efectos de pigmentación.

El tratamiento 5 presenta diferencias con respecto al 6 y 7, existiendo entre éstos dos últimos diferencias entre sí.

Los tratamientos 3, 4 y 5 produjeron los mismos efectos de pigmentación.

6.3 DOSIFICACIONES QUE PRODUCEN MEJOR PIGMENTACION

Los resultados que se observan en la gráfica 1 y Tabla 1, indican que el BR tiene mayor valor pigmentante que el CR, ya que la mejor pigmentación corresponde al tratamiento 7 (75mg/kg de BR), seguido por el tratamiento 6 (50mg/kg de BR). Después de éstos dos, el mayor valor pigmentante se presenta por igual en los tratamientos 3, 4 y 5 (50 y 75mg/kg de CR y 25mg/kg de BR, respectivamente).

En los peces pigmentados con BR, se obtuvo un tono naranja-rojizo en piel, color preferido en piscicultura ornamental, mientras que los peces pigmentados con CR adquirieron una tonalidad naranja simple.

6.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD PARA EL BIO-RED

El análisis histopatológico del intestino de los peces pigmentados con Bio-Red fué negativo. Por lo que se concluye que dicho pigmento no produce ni efectos tóxicos ni efectos indeseables en el pez japonés.

En el caso de los peces alimentados con CR no se determinó la toxicidad del producto, ya que la literatura consultada, reporta a éste pigmento como atóxico. Por otro lado, la literatura no reporta utilización de pigmentos naturales a base de frutos del género Capsicum sp en Carassius auratus para su pigmentación, por lo que hubo que determinar la toxicidad del Bio-Red en ésta especie. Durante el tiempo que duró la investigación los peces aceptaron el alimento y no se presentaron enfermedades en ellos.

7.0 DISCUSION

Al igual que los resultados, la discusión se dividió en cuatro incisos:

- 7.1 VALOR PIGMENTANTE DEL CAROPHYLL RED Y BIO-RED.
- 7.2 EFECTIVIDAD DEL BIO-RED Y DEL CAROPHYLL RED.
- 7.3 DOSIFICACIONES QUE PRODUCEN MEJOR PIGMENTACION.
- 7.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD PARA EL BIO-RED.

7.1 VALOR PIGMENTANTE DEL CAROPHYLL RED Y DEL BIO-RED

Los resultados obtenidos muestran que la adición del CR y del BR en el alimento es capaz de pigmentar la piel del pez japonés (Carassius auratus) ya que todos los tratamientos pigmentaron con respecto al tratamiento control.

7.2 EFECTIVIDAD DEL BIO-RED Y DEL CAROPHYLL RED

Los resultados de la gráfica 1 y Tabla 1 revelan que el BR tiene mayor valor pigmentante que el CR en ésta especie. Proporciona una tonalidad naranja-rojiza, según la dosificación usada. En el caso del CR, la pigmentación obtenida fué naranja y ésta no fué proporcional a la cantidad de pigmento suministrado. La diferencia en las pigmentaciones obtenidas, en ambos casos, pueden deberse a varios factores.

Naturaleza del pigmento:

El hecho de que el BR sea un producto natural podría favorecer la asimilación de sus pigmentos, mientras que el CR que es un pigmento sintético quizás sea menos asimilable.

Dosificación del pigmento:

El BR tiene mayor valor pigmentante que el CR en esta especie. Con la aplicación de niveles de 50 y 75 mg/kg de este último pigmento no hubo diferencias estadísticamente significativas. Esto puede deberse a que el pez japonés necesita una dosificación mayor a 75mg/kg para que consiga pigmentarse.

Meyers y Chen (1982) mencionan que la pigmentación depende de la cantidad de carotenoides en la dieta. Asimismo, estudios realizados por Harris (1984) muestran que una dieta con niveles elevados de carotenoides en un período alimenticio largo y continuo puede provocar un efecto positivo tanto en la fertilidad como en la pigmentación de trucha arco iris (Salmo gairdneri).

La literatura especializada, mayormente se enfoca a truchas y salmones. Si éste efecto se extrapola al pez japonés, se deduce que niveles altos de CR representan un costo prohibitivo, comparado con los beneficios recibidos.

Digestibilidad:

En el caso de la trucha arco iris, la cantidad de cantaxantina fijada depende de la cantidad de pigmento realmente absorbido; ésta digestibilidad depende asimismo del tipo de carotenoide y del organismo al que se le suministra (Choubert, 1983).

Con respecto al pez japonés, se desconoce su coeficiente de utilización digestiva. Es probable que ésta especie tenga un coeficiente de utilización mayor para la capsantina que para la cantaxantina. De ahí que la primera se asimilara, retuviera y fijara mejor que la última.

Biosíntesis:

Otro factor que pudo intervenir para que la cantaxantina tuviera un menor poder pigmentante es la biosíntesis que sufren algunos carotenoides dependiendo del organismo y del carotenoide en si.

Hata y Hata (1972) y Simpson et al., (1981; fide: Christiansen y Wallace, 1988) encontraron que los salmónidos son incapaces de convertir cantaxantina a astaxantina u otros carotenoides. Esto es importante ya que si la cantaxantina puede ser convertida a astaxantina habrá pérdida de éste pigmento durante la biosíntesis. También la habrá si tomamos en cuenta que la astaxantina es precursora de la vitamina "A" en peces.

Según Meyers y Chen (1982), el pez japonés puede metabolizar una dieta de luteína ó zeaxantina a astaxantina. Sin embargo, no puede utilizar ni el β -caroteno ni la cantaxantina como precursora de astaxantina. Rodriguez *et al.*, (1974), por otra parte, demostraron que el pez japonés tiene la capacidad de transformar la isocriptoxantina, la equinona y la cantaxantina a astaxantina. Sus papeles como intermediarios de la biosíntesis de astaxantina están confirmados.

Tanaka (1978) mostró que los pigmentos ingeridos pueden ser depositados en los tejidos de los peces directamente sin modificación ó después de una biotransformación, dependiendo del tejido y de la capacidad de la especie para asimilar los carotenoides. Además de lo anterior, otros aspectos deben ser considerados para lograr la pigmentación de peces:

La eficiencia de pigmentación en los peces depende de la cantidad y tipo de pigmento que se adicione al alimento, así como de factores fisiológicos tales como la talla y la madurez sexual del pez; igualmente, condiciones ambientales tales como temperatura e intensidad de la luz son de relevancia (Ugletvelt, 1974; Ringelberg y Hallegraeff, 1976, fide: Meyers y Chen, 1982).

7.3 DOSIFICACIONES QUE PRODUCEN MEJOR PIGMENTACION

Por los resultados obtenidos se recomienda para Carassius auratus una dosificación de 50 y 75mg de BR por kilogramo de alimento. Ambos niveles varían dependiendo de las necesidades de uso; es decir, si hay mayor demanda de peces con tonalidad de naranja intenso a rojo, se recomienda la cantidad de 75mg/kg de BR; si la demanda es, por otra parte, de peces naranja, se recomienda la de 50mg/kg de BR.

En caso de que se deseen peces rojos, se pueden probar dosis más altas de BR aplicadas en menor tiempo que posiblemente producirán tonalidades más intensas. Por otro lado, en el caso de la cantaxantina, la dosificación que se recomienda es la de 50mg/kg. Con la dosificación de 75mg/kg se obtiene el mismo efecto pigmentante, por lo que el uso de la primera dosificación tiene un costo menor.

Visualmente, se observó que los peces pigmentados con capsantina tuvieron un mayor crecimiento que aquellos pigmentados con cantaxantina. Por lo tanto, el uso del BR como promotor de crecimiento en Carassius auratus pudiera ser el enfoque de un experimento adicional.

7.4 PRUEBAS DE TOXICIDAD PARA EL BIO-RED

La capsantina no produjo ningún efecto tóxico en peces. Esto se pudo comprobar a través del análisis histopatológico, en el cual se observaron las estructuras del intestino a nivel del duodeno, donde se lleva a cabo la mayor absorción de pigmentos. Dichas estructuras no mostraron ninguna alteración.

Los peces aceptaron el alimento realizado para ésta investigación. No se detectaron conductas de resistencia a consumir el alimento ó falta de apetito.

Durante el bioensayo, no se presentaron enfermedades ni parásitos externos en los peces. La mortalidad de peces fué mayor en los tratamientos de cantaxantina. Esta quizás se debió a alguna enfermedad que atacó al pez japonés y no al pigmento en sí.

El uso de ajo (Allium sativum) como desparasitante para evitar nemátodos en los peces fué positivo. El análisis histopatológico no reportó parásitos tales como Eimeria, la que está directamente relacionada con la pigmentación.

ANEXO 1

TABLAS DE RESULTADOS

MUESTRA 1 : PRUEBAS. P1A

MUESTRA 2 : PRUEBAS. P1B.

PRUEBA BASADA EN PARES.

Rango promedio del primer grupo = 2.5 basado en cuatro valores.

Rango promedio del segundo grupo = 6.5 basado en cuatro valores.

Estadístico de Z = 2.16506.

Probabilidad Z = 0.0303826.

Nota: total de observaciones 8.

TABLA 1. PRUEBA DE MANN-WHITNEY PARA PROBAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS : CONTROL Y CANTAXANTINA 25mg/kg.

LAS DIFERENCIAS SON SIGNIFICATIVAS ($p < 0.05$).

MUESTRA 1 : A : PRUEBA CAPSANTINA 25

MUESTRA 2 : A : PRUEBA CAPSANTINA 50

PRUEBA BASADA EN PARES.

Rango promedio del primer grupo = 2.5 basado en cuatro valores.

Rango promedio del segundo grupo = 6.5 basado en cuatro valores.

Estadístico de prueba = 2.16506

Probabilidad Z = 0.0303826.

Nota: total de observaciones 8.

TABLA 2. ANALISIS DE MANN-WHITNEY PARA PROBAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS DE 25 Y 50 mg/kg DE CAPSANTINA.

LAS DIFERENCIAS SON SIGNIFICATIVAS ($p < 0.05$).

MUESTRA 1 : A : PRUEBAS CAPSANTINA 50

MUESTRA 2 : A : PRUEBAS CAPSANTINA 75

PRUEBA BASADA EN PARES.

Rango promedio del primer grupo = 2.625 basado en cuatro valores.

Rango promedio del segundo grupo = 6.375 basado en cuatro valores.

Estadístico de Z = 2.03286.

Probabilidad Z = 0.0420661.

Nota: total de observaciones 8.

TABLA 3. ANALISIS DE MANN-WHITNEY PARA PROBAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS 50 Y 75mg/kg DE CAPSANTINA. LAS DIFERENCIAS SON SIGNIFICATIVAS ($p < 0.05$).

PRUEBA DE KRUSKALL-WALLIS.

TRATAMIENTO	n	rango promedio
CANTAXANTINA 25	4	2.75000
CANTAXANTINA 50	4	9.25000
CANTAXANTINA 75	4	7.5000

prueba estadística = 6.96154

nivel de significancia = 0.0307837.

TABLA 4. PRUEBA DE KRUSKALL-WALLIS PARA PROBAR IGUALDAD DE EFECTOS DE LOS DIFERENTES NIVELES DE CANTAXANTINA SOBRE LA PIGMENTACION.

AL MENOS UN NIVEL PRODUCE EFECTOS DIFERENTES ($p < 0.05$).

MUESTRA 1 : A : PRUEBAS CANTAXANTINA 50

MUESTRA 2 : A : PRUEBAS CANTAXANTINA 75

PRUEBA BASADA EN PARES.

Rango promedio del primer grupo = 5.25 basado en cuatro valores.

Rango promedio del segundo grupo = 3.75 basado en cuatro valores.

Estadístico de Z = -0.721688

Probabilidad Z = 0.470484

Nota: total de observaciones 8

TABLA 5. ANALISIS DE MANN-WHITNEY PARA PROBAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS 50 Y 75mg/kg DE CANTAXANTINA.

LAS DIFERENCIAS NO SON SIGNIFICATIVAS ($p < 0.05$).

MUESTRA 1 : A : PRUEBAS CANTAXANTINA 50

MUESTRA 2 : A : PRUEBAS CAPSANTINA 25

PRUEBA BASADA EN PARES.

Rango promedio del primer grupo = 3.75 basado en cuatro valores.

Rango promedio del segundo grupo = 5.25 basado en cuatro valores.

Estadístico de Z = 0.721688

Probabilidad Z = 0.470484

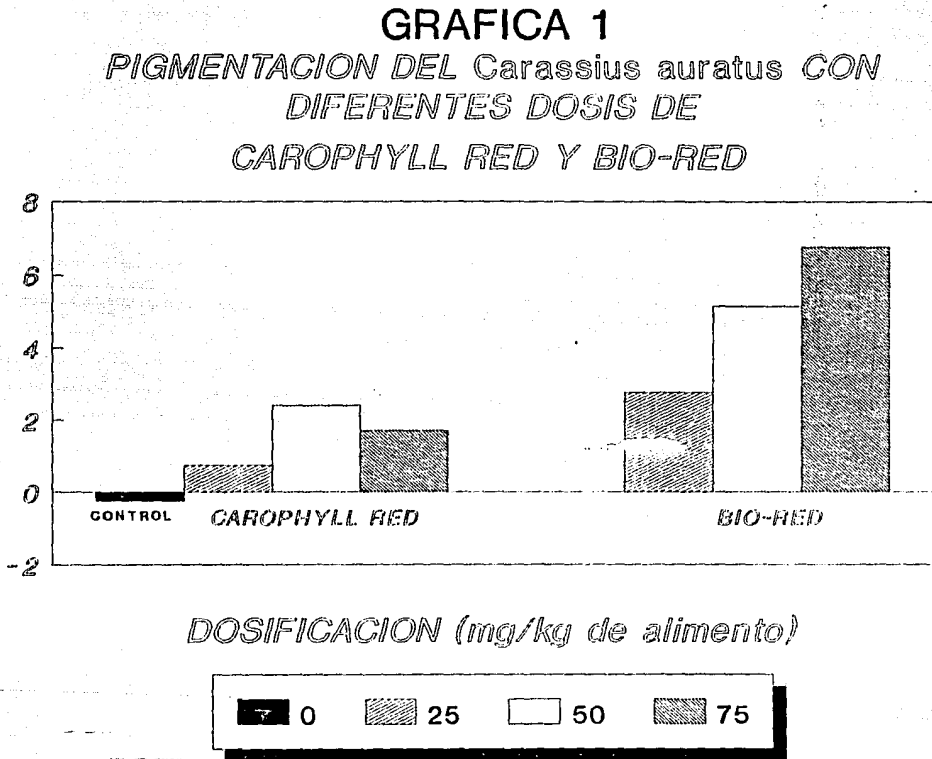
Nota: total de observaciones 8.

TABLA 6. ANALISIS DE MANN-WHITNEY PARA PROBAR DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE LOS TRATAMIENTOS DE 50mg/kg CANTAXANTINA Y 25mg/kg DE CAPSANTINA. .

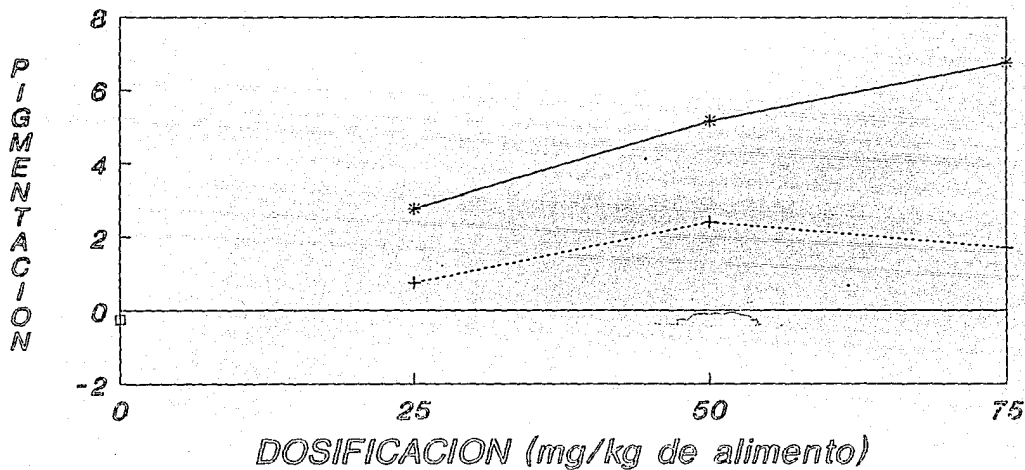
LAS DIFERENCIAS NO SON SIGNIFICATIVAS ($p < 0.05$).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

PIGMENTACION



GRAFICA 2
PIGMENTACION DEL *Carassius auratus* CON
DIFERENTES DOSIS DE
CAROPHYLL RED Y DE BIO-RED



□ CONTROL

+ + + SINTETICO
(CAROPHYLL RED)- * - NATURAL
(BIO-RED)

ANEXO 2

Otras especificaciones del Carophyll Red y del Bio-Red.

C A R O P H Y L L R E D

El Carophyll Red es un polvo rojo violáceo finamente granulado. Contiene cantaxantina en una base de gelatina e hidratos de carbono recubiertos de almidón.

Pérdida por desecación (4 horas a 105°C): máximo 8%.

Finura: (normas de tamizados US): 100% a través del número 20; mínimo 90% a través del número 40; máximo 15% a través del número 100.

Contenido en sustancia activa (espectrofotometría): mínimo 10% de cantaxantina.

Estabilidad: El Carophyll Red es sensible al aire, al calor, a la luz y a la humedad. En su envase original sin abrir (en atmósfera de nitrógeno) y en un lugar fresco puede almacenarse durante 12 meses. Después de abrir el envase, se debe de utilizar su contenido, lo más pronto posible.

Empleo: Como aditivo en el alimento, para la pigmentación de yema de huevo y de la carne de pollo.

B I O - R E D**HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY.****BIO-RED LOTE 345 (5.29 G/KG CON 38.13% ROJOS)**

β -caroteno	16.11%
No identificados	.92%
Criptoxantina	9.27%
Like-luteína	9.13%
Trans-luteína	2.36%
Trans-zeaxantina	6.21%
Otros amarillos	6.78%
Trans-capsantina	35.27%
Cis-capsantina	10.76%
Capsorrubina	2.92%
Violaxantina	.27%

8.0 CONCLUSIONES

Tanto el Carophyll Red como el Bio-Red presentes en el alimento pigmentaron eficazmente la piel del pez japonés.

El Bio-Red mostró mayor poder pigmentante que el Carophyll Red.

La pigmentación obtenida en el caso del Bio-Red y las dosificaciones experimentadas fueron directamente proporcionales a la cantidad del pigmento suministrado.

El uso del Bio-Red a 75mg/kg de alimento no produjo ningún efecto irritante ni tóxico en el pez japonés.

El incremento del Bio-Red en el alimento dió por resultado mejor pigmentación en menor tiempo a las dosificaciones probadas.

9.0 SUGERENCIAS

1) Es conveniente llevar a cabo estudios sobre la pigmentación y factores que afectan la misma (probar diferentes formas de pigmentos; estudiar cómo y de qué forma afectan los factores anímicos; verificar los factores ambientales en los cuales la pigmentación disminuye) en peces ornamentales.

2) Deben realizarse trabajos para determinar en qué edad del pez ó en qué etapas de desarrollo se acumula mayor cantidad de pigmento.

3) Tanto para el Bio-Red como para Carophyll Red se podrian probar dosis más elevadas.

4) Es necesario investigar la cantidad de lipoproteína en el plasma del pez para conocer los limites de la concentración que se debe utilizar para la adecuada pigmentación de los peces.

5) La cantaxantina podría ser aplicada en los peces ornamentales ovíparos para probar la viabilidad de los huevos.

6) Finalmente es necesario determinar las necesidades nutricionales de los peces de acuario.

10.0 LITERATURA:

1.-Allen, K. 1989. La absorción de los carotenoides en la coccidiosis. Tecnología avipecuaria en latinoamérica , año 2., 14: 26-28.

2.-Anderson, J. y col., 1984. Effects of dietary carbohydrate and fibre on the tilapia (Oreochromis niloticus). Linn, Aquaculture, 37: 303-314.

3.-André, E. 1926. Influence de L'alimentation sur la pigmentation des salmonidés. Rev. Suisse Zool., 33: 659-666.

4.-Andrews, W. J. 1980. Protein requirements. Skidway Institute of Oceanography, Univ. of Georgia, Southern Cooperative Series.

5.-Axelrod, H. R. y Schultz. L. P., 1975. Handbook of tropical aquarium fishes. Mc. Graw Hill Book Co., Inc. New York. 559p .

6.-Babor, A. J. y Aznares, I.J. 1980. Química general moderna Ed: Epoca, México. 902.pp.

7.-Basurto, L., 1988 . La coccidiosis y pigmentación, Avirama.VI.72: 31-35.

8.-Bauernfeind, J. C., 1981. Carotenoids as colorants and vitamin A precursors. Academic Press. New York, U.S.A. 938pp.

9.-D'Abramo , L, R., Baum. N.A., Bordner. C.E. y Conklin.D.E. 1983. Carotenoids as a source of pigmentation in juvenile lobsters fed a purified diet.Can.J. Fish. Aquat, Sci. 40: 699-704.

10.-Christiansen, J. S. and J.C. Wallace. 1988. Deposition of canthaxanthin and muscle lipid in two size groups of arctic charr (Salvenius alpinus) (L). Aquaculture. 69: 69-78.

11.-Choubert,G. 1983. Efects d'un pigment caroténoide, la canthaxantine ,sur la pigmentation de la truite arc-en-ciel (Salmo gairdneri R). Bull.Fr.piscic. 289:112-127.

12.-Choubert,G. and Luquet,P., 1983. Utilization of shrimp meal for rainbow trout (Salmo gairdneri R) pigmentation and influence of fat content of the diet. Aquaculture. 32: 19-26.

13.-Choubert,G. 1985. Effects of starvation and feeding on canthaxanthin depletion in the muscle of rainbow trout (Salmo gairdneri R). Aquaculture. 46: 293-298.

14.-Couto,D.D. 1979. El carassius. Alabtros, Argentina. 60pp.

15.-Daniel, W. W. 1980. Bioestadística. Limusa. México.485p.

16.-Fabre, H. 1987. El acuario. Daimon. México. 387pp.

17. Foss, P., Storebakken, T., Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S., austreng, E y Streift, K., 1984. Carotenoids in diets for salmonids I. Pigmentation of rainbow trout with individual optical isomers of astaxanthin in comparison with cantaxanthin. *Aquaculture*. 41: 213-226.

18.-Ganguly, J., Krishnamurthy y S. Mahadevan. 1959. The transport of carotenoids, vitamin "A" and cholesterol across the intestine of rats and chickens. *Biochem. J.* 71: 756-762.

19.-Gatlin, M.D. 1987. Whole-body amino acid composition and comparative aspects of amino acid nutrition of the goldfish, goldenshiner and fathead minnow, Department of Agriculture, Univ. of Arkansas at Pine Bluff. U.S.A. *Aquaculture*. 223-229pp.

20.-Hamilton, P. 1980. The importance of HPLC in pigmenting chicken In: National Pigmentation Symposium, Lynteq, Salisbury, Maryland.

21.-Harris, L.E. 1984. Effects of a broodfish diet fortified with canthaxanthin on female fecundity and e color. *Aquaculture*. 43: 179-183.

22.-Harms, R.H. 1980. The application of pigmentation data for use in poultry production. In: National Pigmentation Symposium... Lynteq, Salisbury, Maryland.

23.-Hata ,M y Hata, M. 1972. Carotenoid pigments in goldfish. IV. Carotenoid metabolism. *Bull. Jen. Soc. Sci. Fish.* 38: 331-338.

24.-Hata, M and Hata, M., 1973. Studies on astaxanthin formation in some fresh water fishes. Tohoku. J. Agric. Res. 24(4): 192-196.

25.-Haxo, F. 1950. Carotenoids of the mushrooms Cantharellus cinnabarinus Botan .Gaz. 112: 228-232.

26.-Hoffman, G.L. 1967. Parasites of North America freshwater fishes. Univ. Calif.Press.

27.-Karrer, P and Jucker, E. 1950. Carotenoids. Elsevier Publishing Company, Inc. London, 384pp.

28.-Katayama, T., Tsudiwa. H. y Chichester. C.O., 1971. The biosynthesis of astaxanthin . V. Interconversion of the alga carotenoids, Stigeoclonium sp into fish carotenoids, fancy red carps , Mem. Fac. Fish. 20: 173.

29.-Lewis, A. E. 1981. Bioestadística . C.E.C.S.A. México.279p.

30.-Liaaen-Jensen, S. 1978. Marine carotenoids "Natural products chemical and biological perspectives. Academic Press. London.

31.-Lovell, R. T.and Lim. C. 1978. Vitamin in pond diets for channel catfish. Trans. Am. Fish. Soc. 107(2): 321-325.

32.-Mahajan, C. L., and Agrawal, N. K. 1980. The role of vitamin C in calcium uptake by fish. Aquaculture. 19: 287-29

33.-Marty, A. H. 1980. Alimentación en peces ornamentales. Albatros, Argentina. 167pp.

34.-Meyers, P. S., and Chen, H. 1982. Astaxanthin and its role fish culture. Department of Food Science and Center for Wetland Resources. Louisiana State Univ.

35.-Meyers, P. S., and Chen, H., 1983. Commercial production and application of a naturally-occurring crustacean astaxanthin pigment in fish. Department of Food Science and Center for Wetland Resources, Louisiana State Univ.

36.-Millikin, R. M. 1982. Qualitative and quantitative nutrient, requirements of fishes: A review. 4(80). Fishery bulletin.

37.-Morales, U. J. 1980. Desarrollo sobre la investigación sobre aspectos nutricionales en peces. Crip. de Patzcuaro, Mich. Ins. Nal. de Pesca. En: 1er. curso de Nutrición Acuícola. Formulación, diseño y elaboración de dietas para peces. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Centro de investigación y estudios avanzados.

38.-Muller, R. K., Bernhard. K., Kionale, K., Mayer, H. y Ruttimann, A. 1980. Some recent advances in the synthesis of natural carotenoids. Food. Chem. 5: 15-45.

39.-Nelson, Ch. E. 1989. Productos pigmentantes como parte de un programa de pigmentación en pollos de engorda. En: Cuarto Congreso Internacional de la Asociación Mexicana de Especialistas en Nutrición Animal. A.C. Acapulco, Guerrero.

40.-Peña, H. N., A. A. Auró and L. H. Sumano, 1988. A Garlic (Allium sativum) trial for nematodes treatment. Journal, of Ethropharmacology. 1-2: 199.

41.-Quakenbush y col., 1965. Deposition of individual carotenoids in avian skin. J. Assoc. Off Analyt. Chem. 48: 1241-1244.

42.-Rodriguez, D. E., K. L. Simpson y C. O. Chichester. 1974. The biosynthesis os astaxanthin, the incorporation and transformation of carotenoid in the goldfish. Journal of Biochemistry, 2: 157-166.

43.-Seurmann, L., C, Martinsen y A, Little. 1979. The effect of dietary lipid and pigment concentration in the feed of (Salmo gairdneri) on sensory characteristics and objective measurements of the fish muscle tissue. In: Proc. Worl Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed. Berlin. Tech. 2: 402-413.

44.-Smith, R. R. 1978. Nutritional bioenergetics in fish. Lab. of fish nutrition. Hagerman, Idaho. In: Fish Feed Technology. 22-25pp.

45.-Spinelli, J. 1979. Preparation of salmonid diets containing zooplankton and their effect on organoleptic properties of pen-reared salmonids. Proc. World.

46.-Stickney, R. R. and T. R. Lovell. 1977. Nutrition and feeding of channel catfish. Proc. World.

47.-Subcommittee on Poultry Nutrition, Committee on Animal Nutrition Board on Agriculture and Renewable Resources National Research Council. 1977. Nutrient requirements of domestic animals. 7a.ed. National Academy of Sciences. U.S.A. 62pp.

48.-Subcommittee on Warmwater Fishes Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture and Renewable Resources. National Research Council. 1977. Nutrient requirements of Warmwater Fishes. National Academy of Sciences. U.S.A. 78pp.

49.-Symposium on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology. 1983. Vol.II. H. Heenemann GmbH & Co. Berlin. 383-392pp.

50.-Tabla de crecimiento. Manual técnico para el cultivo de la carpa. 1982. Secretaría de pesca.

51.-Tacon, A. G. J. 1981. Speculative review of possible carotenoid function in fish. Prog. Fish Cult. 43(4): 205-208.

52.-Tanaka, Y. 1978. Comparative biochemical studies on carotenoids in aquatic animals. Mem. Fac. Fish. Kayoshima Univ. 27: 255-422.

53.-Torrissen, O. J. and O. R. Braekkan. 1979. Utilization of astaxanthin forms by rainbow trout (Salmo gairdneri), Proc. World Symp. on Finfish Nutrition and Fishfeed Technology .Heenemann GmbH & Co.,Berlin.(2):377-382.

54.-Torrissen, O. J. y col., 1982. Ensiling in acid a method to stabilize astaxanthin in shrimp processing by products and improve uptake of this pigment by rainbow trout (Salmo gairdneri). Aquaculture. 26: 77-83.

55.-Torrissen, O. J. 1984. Pigmentation of salmonids, effect of carotenoids in egg and start-feeding diet on survival and growth rate. Aquaculture. 43: 185-193.

56.-Tyczkowski, J. K., and P. B. Hamilton. 1986. Evidence for differential absorption of zeacarotene, cryptoxanthin, and lutein in young broiler chickens; Poultry Sci. 65 : 1137-1140..

57.-Wilson, R. R. and W. E. Poe. 1985. Effects on feeding soybean meal with varying trypsin inhibitor activities on growth of fingerling channel catfish. Aquaculture. 46: 19-25.